

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

**КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ
ИММУНОДИАГНОСТИКИ ГЕРПЕС-АССОЦИИРОВАННЫХ
РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНЫХ КАНДИДОЗОВ****А.В. Ковалева, Е.В. Ковалев, И.М. Арестова, Е.А. Колбасова**

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Реферат

Целью данного исследования явилось выявление особенности клинического течения и состояния клеточного и гуморального звеньев иммунитета у пациентов с герпес-ассоциированными рецидивирующими вульвовагинальными кандидозами (РВБК) на основании применения новых технологий иммунодиагностики для своевременного выявления рецидивов и повышения качества лечения пациентов с данной патологией. Нами были обследованы 110 пациентов с сочетанием герпетической инфекции с РВБК и 38 практически здоровых женщин. Определено, что при рецидивирующем кандидозном вульвовагините необходимо обследование на герпес и исследование микробиоты влагалища. При наличии лабораторно подтвержденной герпетической природы заболевания в случае РВБК следует рассмотреть вероятность наличия атипичного течения герпетической инфекции и проводить соответствующий комплекс лечения (противовирусная и антимикотическая терапия).

Ключевые слова: кандидоз, герпетическая инфекция, индекс avidности, иммунитет, половые пути.

**CLINICAL FEATURES AND NEW TECHNOLOGIES FOR IMMUNODIAGNOSTICS
OF HERPES-ASSOCIATED RECURRENT VULVOVAGINAL CANDIDIASIS****A.V. Kovaleva, E.V. Kovalev, I.M. Arestova, E.A. Kolbasova**

Educational Institution "Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University"

Abstract

The aim of this study was to identify the clinical course and the state of cellular and humoral immunity in patients with herpes-associated recurrent vulvovaginal candidiasis (RVC) based on the use of new immunodiagnostic technologies for the timely detection of relapses and to improve the effectiveness of treatment for patients. We examined 110 patients who had herpes infection with RVC and 38 healthy women. It was determined that with recurrent candidal vulvovaginitis, the testing for herpes and the study of vaginal microbiota are necessary. In the presence of laboratory-confirmed herpetic nature of the disease in case of RVC, the probability of the presence of atypical course of herpetic infection should be considered and an appropriate treatment should be carried out (antiviral plus antifungal therapy).

Key words: candidiasis, herpetic infection, avidity index, immunity, genital tract.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Рост инфекционно-воспалительных заболеваний репродуктивной сферы, несмотря на достижения современной медицины, в структуре гинекологической заболеваемости с каждым

годом увеличивается [1]. Особенно «трудными» для врачей гинекологов оказываются пациенты с герпетической инфекцией и рецидивирующим вульвовагинальным кандидозом (РВБК), частота эпизодов проявления которого связана с образованием сложных ассоциаций микроорганизмов,

снижением чувствительности возбудителя к имеющимся противогрибковым препаратам, образованием сложных биопленок, дисрегуляцией компонентов врожденного и адаптивного иммунитета [2–6]. Атипичные формы герпетической инфекции гениталий, скрывающиеся под маской рецидивирующего кандидоза влагалища и шейки матки, не имеют яркой типичной клинической картины, часто приводят к хронизации процесса и неэффективности применяемой терапии, требуют привлечения новых технологий иммунодиагностики с определением индекса авидности, который пропорционален дозе и природе антигена [7, 8]. Низкие дозы антигена приводят к более быстрому возрастанию авидности, а высокие дозы – к более медленному. Таким образом, если в исследуемой сыворотке крови при наличии или отсутствии IgM обнаруживаются IgG с низкой авидностью, то это свидетельствует о первичной (недавней) инфекции. Наличие же высокоавидных антител IgG говорит о вторичном иммунном ответе в случае попадания возбудителя в организм или обострения (реактивации).

Учитывая все вышесказанное, предметом нашего исследования стал комплексный подход к диагностике, лечению и профилактике рецидивов указанных заболеваний.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В 2015–2019 гг. среди 344 обследованных пациентов было выявлено 110 (31,9%) случаев сочетания РВБК и рецидивирующей герпетической инфекции (РГИ).

Нами было проведено комплексное клинко-лабораторное обследование 110 пациентов с вышеуказанной микст-инфекцией нижних отделов женских половых органов. Контрольную группу составили 38 практически здоровых женщин, проходивших ежегодный профилактический осмотр. Возраст пациентов основной группы распределился от 17 до 42 лет, средний возраст – $28,4 \pm 0,4$ лет; контрольной – 18–40 лет, средний возраст – $27,3 \pm 0,3$ лет. Как видно, пациенты исследуемых групп были сопоставимы по возрасту.

Диагноз генитального герпеса устанавливался на основании клинических данных и лабораторных методов исследования. Для подтверждения РВБК использовали международные критерии диагностики РВБК (типичные клинические симптомы с частотой эпизодов ≥ 4 в год).

Более, чем у половины обследованных женщин основной группы ($n=80$) воспаление нижнего отде-

ла гениталий длилось от года до 3-х лет, у 20 – от 3-х до 5 лет, у 10 – более 5 лет, что свидетельствовало о хроническом течении заболевания и неэффективности проведенного лечения. Рецидивы ВВК повторялись 4–12 раз в год, эффективность лечения была низкой.

При анализе нарушений репродуктивной функции у обследованных пациентов было отмечено, что у 75% женщин акушерский анамнез был отягощен абортами. У 10 пациентов (41,7% случаев), страдающих бесплодием, в анамнезе также были аборты. Самопроизвольные аборты в анамнезе имели 94 женщины (85,5% случаев) основной группы; привычное невынашивание – 16 (14,6% случаев); несостоявшийся аборт – 27 (24,6% случаев) пациентов.

Беременности, закончившиеся самопроизвольными абортами, протекали с явлениями угрозы прерывания и сопровождалась лечением кольпитов у 86 женщин (91,5% случаев), у которых из влагалища высеивали грибы рода *Candida*.

Обращает на себя внимание тот факт, что самопроизвольное прерывание беременности или замершая беременность прерывались в сроки от 5 до 7 недель. Инфекция нижнего отдела гениталий при неразвивающейся беременности была диагностирована у 17 женщин (63% случаев).

В периферической крови с помощью проточного цитофлюориметра с использованием моноклональных антител крови определяли количество лимфоцитов CD3, CD4, CD8, CD19 и CD25. Также исследовались фагоцитарная и метаболическая активности лейкоцитов по спонтанному и индуцированному тесту НСТ, уровни иммуноглобулинов.

На основании добровольного информированного согласия пациентов и в соответствии со стандартами у всех женщин дважды забирали по 5 мл венозной крови для исследования содержания IgM- и IgG-антител к ВПГ и индекса авидности специфических IgG. Первый анализ осуществляли при первом обращении, повторный – спустя 4 нед. Для определения уровня IgM и IgG и индекса авидности использовали метод ИФА, наборы «Вектор-Бест» (РФ). Результаты оценивались согласно рекомендациям фирмы-производителя.

В выборку были включены ВПГ-положительные женщины на основании определения IgG-антител к белкам ВПГ типов 1 и 2 в сыворотке крови. Критериями исключения из выборки были отсутствие анти-ВПГ IgG в сыворотке крови (ВПГ-отрицательные женщины), наличие активной инфекции другой вирусной или бактериальной

этиологии, системных аутоиммунных заболеваний и иммунодефицитных состояний.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакетов статистического анализа данных Statistica for Windows 10.0 («StatSoft Inc.», Талса, США, лицензия УО «ВГМУ» sta999k347156-w). При сравнении данных между двумя зависимыми выборками использовали расчет коэффициента корреляции Спирмена. Математическую обработку данных проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Достоверными считали результаты при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические проявления генитальной микст-инфекции у обследованных женщин позволили выделить три группы пациентов:

- первую группу составили 16 пациенток (14,5% случаев [95% ДИ 9,1; 22,4]) с частыми типичными клиническими проявлениями генитального герпеса (ЧРГГ) и частотой обострений ВВК от 4 до 12 раз в год;
- во вторую группу вошли 72 (65,5% случаев [95% ДИ 56,2; 73,7]) пациента с атипичным течением герпеса (вульводинии, рецидивирующие воспалительные заболевания шейки матки и влагалища, микротрещины, жжение, зуд) и наличием симптомов ВВК с частыми обострения-

ми ежемесячно накануне менструации (до 12 раз в год) - группа «атипичного рецидивирующего генитального герпеса» (АРГГ);

- третья группа представлена 22 (20% случаев [95% ДИ 13,6; 28,5]) женщинами, у которых отсутствовали клинические проявления генитального герпеса (вирус был выявлен при специальном обследовании) и обострениями ВВК более 4 раз в год – группа «латентно протекающего генитального герпеса» (ЛГГ);

- в контрольную группу вошли 38 практически здоровых пациентов.

В таблице 1 приведены данные по иммунному статусу.

Доля лимфоцитов в период рецидива заболевания, равно как и в период ремиссии была статистически значимо выше, чем в контрольной группе ($38,2 \pm 2,1\%$, $44,1 \pm 1,5\%$ и $29,6 \pm 1,2\%$ соответственно).

Исследуемые группы по абсолютному количеству лимфоцитов статистически значимо не различались. В период обострения во всех трех группах содержание CD3 снижалось до $32,1 \pm 1,9\%$, а при ремиссии достигало величины $46,5 \pm 13,3\%$, в контрольной группе данный показатель равнялся $52,1 \pm 4,4\%$. Сходные изменения наблюдались в отношении CD4+ лимфоцитов ($26,9 \pm 1,8\%$, $30,1 \pm 2,4\%$ и $36,7 \pm 4,2\%$ соответственно).

Доля CD25+ была выше при рецидиве ($22,9 \pm 0,5\%$) и снижалась при ремиссии ($15,9 \pm 0,7\%$),

Таблица 1. Показатели иммунного статуса у пациентов с рецидивирующей герпетической инфекцией и РВВК

Показатель, единицы измерения	Группы I, II, III (n=110)		Контрольная группа (n=38)
	Рецидив	Ремиссия	
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$4,71 \pm 0,5$	$4,41 \pm 0,4$	$5,6 \pm 0,2$
Лимфоциты, %	$38,2 \pm 2,1^{**}$	$44,1 \pm 1,5^{***}$	$29,6 \pm 1,2$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	$2,01 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,1$
CD3+, %	$32,1 \pm 1,9$	$46,5 \pm 13,3$	$52,1 \pm 4,4$
CD4+, %	$26,9 \pm 1,8$	$30,1 \pm 2,4$	$36,7 \pm 4,2$
CD8+, %	$17,1 \pm 1,2$	$14,2 \pm 2,5$	$15,8 \pm 1,5$
CD25+, %	$22,9 \pm 0,5$	$15,9 \pm 0,7$	$19,7 \pm 2,3$
ИЛ-1, пг/мл	$5,3 \pm 2,5$	$5,9 \pm 2,7$	$5,3 \pm 2,9$
ИЛ-2, ед/мл	$11,8 \pm 9,3^{**}$	$12,2 \pm 4,0$	$18,5 \pm 14,2$
IgM, г/л	$1,21 \pm 0,1$		$1,03 \pm 0,1$
IgG, г/л	$13,2 \pm 0,6^*$		$11,7 \pm 0,7$
IgA, г/л	$2,8 \pm 0,3^*$		$1,6 \pm 0,3$

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – при сравнении с показателями в контрольной группе.

в контрольной группе – $(19,7 \pm 2,3\%)$. По нашему мнению, это не свидетельствует об иммунопатологии, а подтверждает нормальную функцию клеточного звена иммунитета. Содержание IgG у пациентов с обострением герпетической инфекции было статистически значимо выше, чем у женщин контрольной группы ($13,2 \pm 0,6$ г/л и $11,7 \pm 0,7$ г/л соответственно), что свидетельствует о развитии гуморального иммунитета против вируса герпеса у пациентов основной группы. По другим изучаемым показателям статистически значимых различий выявлено не было. Необходимо отметить, что выявленные различия не являются специфичными для герпетической инфекции и в равной степени имеют место при большинстве инфекций.

Показатели эффекторного звена иммунитета представлены в таблице 2.

При изучении показателей фагоцитоза выявлено статистически значимое снижение фагоцитарного индекса как в период рецидива заболевания ($3,4 \pm 0,4$ у.е.), так и при ремиссии ($3,8 \pm 0,4$ у.е.) по сравнению с контрольной группой ($5,8 \pm 0,9$ у.е.). В то же время при обострении процесса обнаружено достоверное повышение показателей активности лейкоцитов как в спонтанном, так и в индуцированном тесте НСТ по сравнению с контрольной группой (НСТ спонтанный – $38,5 \pm 7,2\%$; НСТ индуцированный – $61,0 \pm 6,4\%$ против $17 \pm 2,2\%$ и $35,5 \pm 3,3\%$ соответственно в контрольной группе; $p < 0,05$).

Высокие показатели индуцированного НСТ-теста сочетались с наличием большего числа клеток, восстанавливающих нитросиний тетразолий и способных поглощать латексные частицы (индекс авидности у пациенток I, II, III групп равнялся 0,6–1 против 0,55–0,7 в контрольной группе.

Этот факт может указывать на фазу обострения.

После наступления ремиссии процесса (в среднем через 2,5 недели) отмечалось снижение показателей индуцированного НСТ-теста ($27,4 \pm 2,7\%$ против $35,5 \pm 3,3\%$ в контрольной группе). В ряде случаев имело место снижение числа фагоцитирующих клеток. Процент фагоцитоза составлял 16–29% против 41–67% в контрольной группе. На фоне снижения функциональной активности лейкоцитов выявлялось нарастание в крови иммуноглобулина А ($2,8 \pm 0,3$ г/л против $1,6 \pm 0,3$ г/л в контроле; $p < 0,05$).

Таким образом, было показано, что в период обострения отмечалось снижение фагоцитарной активности и увеличение числа клеток, способных восстанавливать нитросиний тетразолий в условиях стимуляции нейтрофилов и в спонтанном НСТ-тесте.

По-видимому, данный факт связан с накоплением в лейкоцитах активных форм кислорода по причине присутствия в очаге вирусных антигенов. У пациентов в фазе ремиссии отмечалось выраженное снижение показателей как спонтанного, так и индуцированного НСТ-тестов, что характеризует нарастание уровня защитных реакций у данных пациентов.

Данные изменения характеризуют и хроническое течение процесса, при котором фагоциты оказываются в стрессовом состоянии, граничащем с несостоятельностью фагоцитоза в стадии обострения, равно как и в фазе ремиссии при сочетании ВПГ-инфекции и ВВК. Все это создает предпосылки для возникновения очередного обострения.

Таким образом, при рецидивирующей герпес-вирусной инфекции имеет место как реакция

Таблица 2. Показатели эффекторного звена иммунитета у пациентов с рецидивирующей герпетической инфекцией и РВБК

Показатель, единицы измерения	Группы I, II, III (n=110)		Контрольная группа (n=38)
	Рецидив	Ремиссия	
Фагоцитоз, %	$46,3 \pm 4,1$	$44,9 \pm 3,8$	$41,2 \pm 5,3$
Фагоцитарный индекс, у.е.	$3,4 \pm 0,4^*$	$3,8 \pm 0,4^*$	$5,8 \pm 0,9$
Фагоцитарное число, у.е.	$7,1 \pm 0,5^*$	$7,4 \pm 0,5^*$	$3,0 \pm 0,3$
НСТ спонтанный, %	$38,5 \pm 7,2^*$	$18,9 \pm 2,4$	$17 \pm 2,2$
НСТ индуцированный, %	$61,0 \pm 6,4^*$	$27,4 \pm 2,7$	$35,5 \pm 3,3$
ЛКТ, у.е.	$1,22 \pm 0,1$	$1,55 \pm 0,27$	$1,5 \pm 0,2$
МПО, нг/мл	$361 \pm 33,9$	$433 \pm 43,3$	$163 \pm 20,3$

* $p < 0,05$ при сравнении с показателями в контрольной группе

со стороны гуморального и клеточного звеньев иммунитета, так и эффекторного звена. При этом данные изменения являются приспособительными и характерны не только для ВПГ, в связи с чем не являются самыми высокоинформативными для определения данной инфекции в организме и ее рецидива.

В связи с вышеуказанным, мы провели анализ титров специфических иммуноглобулинов класса М и G против ВПГ 1-2 типа: у 38 человек контрольной группы и 94 пациентов II и III групп. В результате было установлено, что в контрольной группе только у 2-х пациентов (5,3% случаев [95% ДИ 0,54; 18,2]) титр специфических IgG против ВПГ был равен 1/32 при отрицательном титре IgM, а у 36 пациентов (94,7% случаев [95% ДИ 81,8; 99,5]) титр специфических IgG против ВПГ был выше 1/64, при отрицательном титре Ig M.

Во II и III группах только у 6 пациентов (6,4% случаев [95% ДИ 2,7; 13,5]) отмечалось снижение титров антител класса IgG менее 1/16 при титре IgM от 1/8 до 1/16. У 67 пациентов (71,3% [95% ДИ 61,4; 79,5]) отмечались титры IgG против ВПГ равные 1/16 при титрах IgM от 0 до 1/8. У 21 пациента (22,3% [95% ДИ 15,03; 31,9]) отмечался титр IgG, равный 1/32 при отрицательном титре IgM. Таким образом большинство пациентов с герпес-ассоциированным РВБК имели сниженные показатели специфического гуморального иммунитета против ВПГ 1/2 типа.

Анализ вирусоспецифических антител и их avidности установил, что среднее значение концентрации сывороточных IgG-антител у 88 пациентов I и II групп было статистически значимо выше (КП $7,27 \pm 3,48$; титр 1:800-1:3200), чем у пациентов III группы (КП $2,38 \pm 1,48$; титр 1:100; $p=0,0012$). Однако протективность анти-IgG-антител у пациентов всех трех групп чаще всего оставалась низкой или пограничной.

Проведенный сравнительный анализ показал, что у пациентов с частыми типичными клиническими проявлениями генитального герпеса и атипичными проявлениями данной инфекции в сочетании с ВБК концентрация изученных маркеров статистически значимо выше, чем у женщин группы латентного протекания ВПГ в сочетании с ВБК ($p=0,001$). Однако, высокая концентрация IgG против ВПГ в сыворотке крови может быть обусловлена как выраженным иммунным ответом на первичную инфекцию, так и на повторяющиеся эпизоды герпетической инфекции, что подтверждается значениями индекса avidности.

ВЫВОДЫ

1. Атипичное и латентное течение герпетической инфекции связано с рецидивированием инфекции, что ассоциировано с одновременным реактивированием вульвовагинального кандидоза до 12 раз в год и имеет не только клиническое, но и иммунопатогенетическое подтверждение.

2. При развитии рецидивирующей ВПГ-инфекции наблюдается реакция со стороны как специфических звеньев, так и эффекторного звена иммунитета. Однако эти изменения являются признаками компенсаторной реакции иммунной системы и характерны также для других инфекций, поэтому не могут быть специфическими для острой инфекции или ее рецидива.

3. Ведущим звеном в иммунопатогенезе и клинической картине РВБК, ассоциированного с ВПГ, может являться врожденное или приобретенное снижение специфического иммунитета к последнему. Это диктует необходимость разработки методов специфической противогерпетической иммунотерапии при данной патологии.

4. При частых рецидивах КВВ необходимо обследование на герпес. При лабораторном подтверждении герпетической инфекции в случае РКВВ следует рассмотреть вероятность атипичного течения герпетической инфекции и проводить соответствующий комплекс лечения (противовирусная и антимикотическая терапия).

ЛИТЕРАТУРА

1. Анкирская, А.С. Аэробные вагиниты в структуре оппортунистических инфекций влагалища. Дискуссионный вопрос нозологической терминологии / А.С. Анкирская, В.В. Муравьева, Т.Э. Карапетян // Акушерство и гинекология. – 2013. - №1. - С. 107-110.
2. Анкирская, А.С. Видовой состав и некоторые биологические свойства лактобацилл при различных состояниях микроэкологии влагалища / Анкирская А.С., Муравьева В.В. // Акуш. гинекология. – 2000. - №3. - С. 26-28.
3. Прилепская, В. Н. Вульвовагинальный кандидоз: новые критерии и международные рекомендации для врача-клинициста, основанные на принципах доказательной медицины / В.Н. Прилепская // Доктор.РУ. 2011. №9. С. 12–17.
4. Mendling, W. Vaginal Microbiota / W. Mendling // Adv Exp Med Biol. – 2016. - Vol. 902. - P. 83-93.
5. Морфологический состав биопленки биотопа влагалища при воспалительных заболеваниях репродуктивной системы.

дуктивного тракта женщин//А.В. Мясникова [и др.]//Вестник новых медицинских технологий. - 2011. - Т. 18, №4. - С. 21-24.

6. Тютюнник, В.Л. Современные принципы профилактики и лечения вульвовагинального кандидоза /В.Л. Тютюнник, Т.Э. Карапетян, А.А. Балущкина //ПМЖ. 2010. Т. 18, №19. С. 1186–1190.
7. Кудин, А.П. Роль Herpes simplex в патологии человека/А.П. Кудин, И.Г. Германенко, А.А. Астапов// Медицинские новости. 2004. - №5. - С. 11-14.
8. Overlapping reactivations of herpes simplex virus type 2 in the genital and perianal mucosa.//S. Tata [et al.]/ J. Infect. Dis. 2010; 201 (4): 499–504.